

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931.

N° 16.

Contribution à l'étude chimique de la Gaulthérie
(*Gaultheria procumbens* L.).



THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

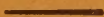
Présentée et soutenue le juin 1931

PAR

Madame SUZANNE RABATÉ,

INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS

ASSISTANTE SUPPLÉANTE AU LABORATOIRE DE PHYSIQUE VÉGÉTALE
DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE.



JURY { MM. BOUGAULT, Président.
 HÉRISSEY, Professeur.
 BRIDEL, Professeur.



LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1931

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1930-1931.

N° 16.

Contribution à l'étude chimique de la Gaulthérie
(*Gaultheria procumbens* L.).

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le. juin 1931

PAR

Madame SUZANNE RABATÉ,

INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS

ASSISTANTE SUPPLÉANTE AU LABORATOIRE DE PHYSIQUE VÉGÉTALE
DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE.

JURY { MM. BOUGAULT, Président.
HÉRISSEY, Professeur.
BRIDEL, Professeur.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1931

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. *,  I.
 PERROT, Assesseur, O. *,  I.
 G. DURSANT, Secrétaire, *,  I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. *,  I.....	Cryptogamie et Micro- biologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. *,  I.....	Chimie organique.
PERROT, O. *,  I.....	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. *,  I.....	Zoologie.
LEBEAU, O. *,  I.....	Pharmacie chimique.
GUERBET, *,  I.....	Toxicologie.
BOUGAULT, *,  I.....	Chimie analytique.
GORIS, *,  I.....	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, *,  I.....	Botanique générale.
TASSILLY, *,  I.....	Physique.
DAMIENS, *,  I.....	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *,  I.....	Chimie biologique.
SOMMELET, *,  I.....	Hydrologie et Hygiène.
LUTZ, *,  I.....	Professeur sans chaire.
LAUNOY, O. *,  I.....	— —

Professeurs honoraires : MM. A. VILLIERS, *,  I., GRIMBERT, *,  I. et
 DELÉPINE, O. *,  I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *,  I....	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, *,  I.....	Cryptogamie.
LAUNOY, O. *,  I.....	Pharmacodynamie.
FABRE,  I.	Minéralogie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY *,  I.	MM. MASCRÉ,  I.	MM. BACH,  I.
PICON,  I	FLEURY,  I.	BEDEL,  I.
FABRE,  I.		RÉGNIER,  I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL,  I., <i>agrégé</i> , chargé des T. P. de 1 ^{re} année	Chimie générale.
FABRE,  I. et RÉGNIER,  I., <i>agrégés</i> , chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES,  I.	Micrographie
LEROUX,  I.	Physique.
DEVAL,  I.	Microbiologie.
DELABY, *,  I., PICON,  I., et FLEURY,  I. <i>agrégés</i> , chargés des Travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M BEAULIEUX,  I.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOUGAULT,

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE.
PHARMACIEN-CHEF DE L'HÔPITAL DE LA CHARITÉ,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de respect et de reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRIDEL,

PROFESSEUR AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE,
PHARMACIEN-CHEF DE L'HÔPITAL LARIBOSIÈRE,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de respect et de reconnaissance.

INTRODUCTION.

La Gaulthérie (*Gaultheria procumbens* L.) est un sous-arbrisseau rampant de la famille des Ericacées. Il croit en abondance dans les régions froides de l'Amérique du Nord, au Canada, à Terre-Neuve et au Labrador.

Les feuilles sont coriaces, pétiolées, obovales, d'environ 4 cm. de long sur 2 à 3 cm. de large. Elles sont entièrement glabres. Leur bord est légèrement denté et enroulé sur la face inférieure.

Les feuilles fraîches, froissées, dégagent une forte odeur de salicylate de méthyle. Ce composé est le principal constituant d'une essence obtenue par distillation, l'essence de Wintergreen.

D'autres plantes possèdent la propriété de dégager une odeur de salicylate de méthyle quand on broie leurs tissus. Parmi elles, M. M. BRIDEL a trouvé le *monotroposide* dans le *Monotropa Hypopitys* L. [2], le *Betula lenta* L. [3], le *Spiræa Ulmaria* L., le *S. Filipendula* L. et le *S. gigantea*, var. *rosea* [4]. Ce glucoside résulte de la combinaison d'une molécule de salicylate de méthyle, d'une molécule de glucose, et d'une molécule de xylose

avec élimination de deux molécules d'eau [5]. Le glucose et le xylose se trouvent combinés sous forme de primevérose que l'on obtient par hydrolyse fermentaire. Dans le *Viola cornuta* L., M. P. PICARD [20] a isolé un autre glucoside générateur de salicylate de méthyle, le violutoside, différent du monotropitoside par le pentose qu'il renferme. Ce pentose serait vraisemblablement de l'arabinose.

Il était donc intéressant de rechercher si le salicylate de méthyle existait à l'état libre ou combiné dans la Gaulthérie, et, dans ce dernier cas, de savoir quelle était la nature de la combinaison.

Nous avons appliqué à l'étude de cette plante la méthode biochimique à la rhamnodiastase de MM. M. BRIDEL et C. CHARAUX [7]. Cette méthode nous a permis de démontrer la présence dans la Gaulthérie d'un glucoside à salicylate de méthyle. Nous avons extrait ce glucoside et nous l'avons identifié au monotropitoside.

Cette première recherche a été entreprise sur un extrait aqueux de Gaulthérie fraîche préparé en Amérique. Nous avons ensuite effectué les mêmes essais sur un extrait alcoolique de la plante fraîche, préparé par le même correspondant.

C'est au cours de l'étude de cet extrait que nous avons obtenu un nouveau glucoside : le Gaulthérioside.

Ayant reçu 20 kg. de plante sèche, nous avons étudié les divers organes, feuilles, tiges, rhizomes, fruits. Nous avons extrait le monotropitoside des feuilles et des tiges.

Notre travail est réparti comme suit :

- I. — Résumé des travaux antérieurs.
- II. — Etude de l'extrait aqueux de Gaulthérie fraîche préparé en Amérique.
- III. — Etude de l'extrait alcoolique de plante fraîche préparé en Amérique, et exposé de nos expériences sur le nouvel hétéroside.
- IV. — Etude de la plante sèche et de ses organes séparés : feuilles, tiges, rhizomes et fruits.
- V. — Expériences sur les ferments des divers organes de la plante.
- VI. — Recherches de l'arbutoside et de l'ursone.
- VII. — Conclusions.

Ce travail a été réalisé sous la direction de M. le Professeur BRIDEL. Je dois à ce maître bienveillant de m'avoir intéressée aux travaux de laboratoire. C'est grâce à sa bonté, à sa patience et aux encouragements continuels qu'il m'a toujours prodigués, que j'ai pu mener à bien ce travail.

Je suis heureuse de pouvoir lui en exprimer ici ma respectueuse reconnaissance.

Je remercie M. le Professeur BOUGAULT d'avoir accepté la présidence de cette soutenance de thèse, et je prie également M. le Professeur HÉRISSEY d'accepter mes remerciements respectueux.

J'adresse à M. DUFOUR, pharmacien à Orléans, mes sincères remerciements, pour les excellents conseils et enseignements dont il m'a fait profiter au cours de mon stage.

CHAPITRE PREMIER

Travaux antérieurs sur la composition chimique de la Gaulthérie.

La composition du *Gaultheria procumbens* L. a fait l'objet de divers travaux ayant principalement pour but l'étude de l'essence que fournit cette plante. Cette essence est connue sous le nom d'essence de Wintergreen.

La première étude sur la Gaulthérie est due à W. PROCTER (1842) [23]. La composition de l'essence n'a été déterminée exactement que par A. CAHOURS [41] en 1843. Il a montré qu'elle est constituée par 99 p. 100 de salicylate de méthyle et 10 p. 100 d'un hydrocarbure particulier auquel il a donné le nom de Gaulthé-
rilène. PETTIGREW, en 1884 [19], et POWER et WERBKE en 1888 [22] ont caractérisé de nouveau le Gaulthéri-
lène dans l'essence. Selon ces auteurs, cet hydrocar-
bure ne forme que 0,3 p. 100 de l'essence.

En 1872, parut un travail de J. OXLEY [18] sur la composition de la plante sèche. D'après cet auteur, la Gaulthérie renfermerait de l'arbutine (actuellement arbutoside), de l'ursone, de l'éricoline, de l'acide tannique, un principe analogue à l'acide gallique, du glucose, de la gomme et une matière colorante. OXLEY a

indiqué, en outre, que la Gaulthérie ne contenait pas de chimaphyline, matière colorante cristallisée du *Chimaphyla umbellata*.

La présence de l'arbutoside, de l'ursone et de l'éricoline n'est nullement démontrée par les travaux d'OXLEY, et nous y reviendrons par la suite.

En effet, l'auteur n'a obtenu aucun de ces principes à l'état pur.

L'arbutine fut caractérisée par la réaction de JUNGSMANN (coloration bleue, par addition d'acide phosphomolybdique à une solution aqueuse diluée rendue alcaline par l'ammoniaque). Cette réaction n'est pas spécifique ainsi que l'ont fait observer CLAASEN en 1886 [12] et Mlle A. FICHTENHOLZ en 1908 [14].

L'ursone ne fut pas mieux identifiée. « On n'a pas obtenu l'ursone à l'état pur », dit OXLEY, « mais on en obtint suffisamment pour la sublimer dans un tube à essai. On n'a pu essayer l'action des réactifs à cause de la présence de la chlorophylle, mais les propriétés concordent avec celles de l'ursone ».

Travaux sur l'ursone. — En 1872, la composition et les propriétés de l'ursone n'étaient pas nettement définies et ce corps a été, depuis, l'objet de publications contradictoires. En 1854, TROMMSDORF [30], le premier, retira l'ursone des feuilles d'Uva-ursi.

Il obtint l'ursone sous forme d'aiguilles soyeuses, inodores et insipides et assigna à ce principe la formule $(C^{10}H^{16}O)^n$.

DODGE, en 1918 [13], prépara l'ursone à partir des feuilles d'Uva-ursi. Il obtint l'ursone cristallisée et remarqua que ce corps possédait les mêmes propriétés chimiques que la *caryophylline*. Il admit pour l'ursone la formule de la caryophylline : $C^{30}H^{48}O^3$. C'est la lactone

d'un dioxyacide. Cependant, par ses propriétés physiques, l'ursone se différencie de la caryophylline. L'auteur conclut à l'isomérisie des deux produits.

Van der HAAR [31, 32, 33, 34], en 1924, puis en 1928, reprit l'étude de l'ursone et lui attribua, d'après les résultats de ses combustions, la formule d'un hydroxyacide : $C^{31}H^{50}O^3$, et il proposa le nom d' *acide ursolique*.

Enfin, en continuant son étude sur l'ursone, il conclut à l'identité du *malol*, extrait des pelures de pomme, du *prunol*, retiré des feuilles de merisier sauvage, et de l'ursone.

Il confirma, pour ces trois produits, la formule $C^{31}H^{50}O^3$.

Ch. SANDO [27], en 1931, après une controverse de DODGE et de Van der HAAR, fit une étude plus approfondie du malol, du prunol, et de l'ursone. Il conclut, lui aussi, à l'identité de ces trois produits. Le nom d'acide ursolique est laissé à l'ursone, mais la formule de l'acide ursolique est $C^{30}H^{48}O^3$ et non $C^{31}H^{50}O^3$ comme le prétendait Van der HAAR.

Nous avons cherché, sans succès, à extraire et à caractériser cet acide dans la Gaulthérie.

Travaux sur l'éricoline. — Les travaux antérieurs sur l'éricoline sont peu précis.

La première étude de ce principe est celle de ROCHLEDER et SCHWARZ en 1852 [26]. Ces auteurs indiquent la préparation de l'éricoline.

Les feuilles de *Ledum palustre* sont épuisées à l'eau bouillante. Les liqueurs aqueuses concentrées sont précipitées par l'alcool.

Le filtrat est déféqué à l'eau de baryte.

On filtre de nouveau, et l'excès de baryte est éliminé par le gaz carbonique. Après filtration, la liqueur est déféquée par l'acétate neutre de plomb, puis par l'acétate

basique de plomb. La solution filtrée est additionnée d'alcool qui précipite le sel de plomb de l'éricoline. Le précipité plombique traité par l'acide sulfurique dilué donne l'éricoline $C^{16}H^{30}O^{21}$.

Les auteurs ont effectué une autre préparation en partant de la plante entière : les liqueurs aqueuses d'épuisement sont déféquées au sous-acétate de plomb et concentrées au 1/3. On élimine le plomb par l'acide sulfurique et, après filtration, la liqueur est concentrée en extrait. Celui-ci est repris par l'alcool-éther à l'ébullition. La solution obtenue est évaporée à sec ; l'extrait est à nouveau repris par l'alcool-éther et on continue ces opérations jusqu'à ce que le produit soit entièrement soluble dans le mélange solvant.

Quand ce résultat est atteint, l'extrait final forme l'éricoline. Il a pour formule $C^{68}H^{110}O^{41}$.

Le produit appelé par ces auteurs éricoline n'est qu'un extrait sans composition fixe. Ce n'est pas un produit défini.

Richard THAL, en 1883 [29], prépare l'éricoline selon le second procédé de ROCHLEDER et SCHWARZ et il en étudie les propriétés. Il obtient, par dessiccation de l'extrait, une poudre jaune hygroscopique, sans odeur, très amère. Par chauffage à 100°, l'éricoline s'altère et donne un peu d'éricinol reconnaissable à son odeur. La solution obtenue par hydrolyse acide réduit la liqueur de Fehling.

KANGER, en 1903, [17] indique une préparation de l'éricoline à partir des feuilles de *Vaccinium vitis idaea*.

Les analyses élémentaires des divers produits qu'il obtient sont très divergentes et cet auteur pense que l'éricoline n'est pas un produit défini.

Enfin, WICKMANN [35], en 1912, recherche l'éricoline par la méthode de KANGER dans le *Cassiope tetragona*.

Il caractérise ce produit par ébullition avec un acide

étendu, il constate la formation de sucre réducteur. L'éricoline serait donc un glucoside, mais l'auteur remarque qu'il manque des données précises sur ce principe.

L'exposé de ces travaux montre que l'éricoline n'est pas un produit défini. Les différents auteurs ont appelé éricoline ce qui n'est qu'un extrait et, malgré cela, on trouve encore le nom d'éricoline et celui d'éricinol dans des traités récents de matière médicale [21].

POWER et WERBKE [22], en 1888, ont cherché à caractériser dans la Gaulthérie la présence de l'*andromédotoxine*, principe toxique retiré par PLUGGE, en 1883, des feuilles de diverses Ericacées. Ils concluent que l'*andromédotoxine* n'existe pas dans la Gaulthérie.

En 1896, Em. BOURQUELOT [4] a mis en évidence dans les feuilles de la Gaulthérie la présence d'un ferment soluble. Ce ferment hydrolyse le glucoside à salicylate de méthyle du *Monotropa Hypopitys* L., non encore isolé, et celui du *Betula lenta* L. que SCHNEEGANS et GEROCK [28], en 1894, avaient obtenu cristallisé et nommé *Gaulthérine* en lui attribuant une composition erronée. BOURQUELOT a donné à ce ferment le nom de gaulthérase, parce qu'il hydrolysait la Gaulthérine. A l'heure actuelle, on doit considérer ce ferment comme spécifique des primevérosides et l'appeler *primevérosidase* ainsi que M. M. BRIDEL l'a proposé en 1925 [6].

A notre connaissance, le seul travail se rapportant à l'état sous lequel se trouve le salicylate de méthyle dans le *Gaultheria procumbens* L. est celui de W. PROCTER, en 1843 [23].

Après avoir caractérisé, dans le *Betula lenta* L., un glucoside à salicylate de méthyle qu'il n'a pu obtenir à l'état cristallisé et qu'il a nommé Gaulthérine, PROCTER s'exprime ainsi : « La Gaulthérine ne semble pas exister dans le *Gaultheria procumbens* L. Les feuilles de cette

plante, séchées, pulvérisées et traitées comme l'écorce de *Betula lenta* L., ne fournissent pas ce principe. Les feuilles de Gaulthérie, conservées, perdent leur odeur et ne la redonnent pas quand on les mélange avec de l'eau comme le fait l'écorce de *Betula lenta* L.; d'où il semblerait que le salicylate de méthyle est un principe immédiat dans le *Gaultheria procumbens* L., tandis que c'est un principe secondaire dans le *Betula lenta* L. ».

Ce qui peut être retenu du travail de PROCTER, c'est que, dans la plante sèche, il n'existe pas de salicylate de méthyle combiné, mais, comme la combinaison glucosidique a pu se détruire au cours de la dessiccation, cela n'infirme nullement la présence d'un glucoside à salicylate de méthyle dans la plante fraîche.

Dans leur travail sur les glucosides de la Primevère, MM. A. GORIS, M. MASCRÉ et Ch. VISCHNIAC [16] estiment qu'il existe un glucoside à essence dans la Gaulthérie fraîche. Ils ont fait agir sur un liquide aqueux de Gaulthérie les poudres fermentaires de *Gaultheria procumbens* L., de *Betula lenta* L., de *Primula officinalis* Jacq. Avec ces trois poudres, ils ont obtenu un changement de déviation vers la gauche. On peut faire remarquer que ce changement de déviation vers la gauche indique que le liquide essayé renfermait du saccharose ou un sucre analogue et n'est aucunement la preuve de la présence d'un glucoside qui aurait produit par son hydrolyse un changement de déviation vers la droite. Il est possible aussi qu'il y ait eu les deux réactions simultanées, le changement vers la gauche étant le plus fort et ayant masqué totalement le changement vers la droite. Mais on comprend que, dans ces conditions, il soit difficile d'avoir une certitude en s'appuyant sur les expériences de ces auteurs.

En résumé, le seul principe chimiquement défini qui ait été retiré de la Gaulthérie est le salicylate de mé-

thyle (PROCTER; CAHOURS; PETTIGREW; POWER et WERBKE). D'après PROCTER, ce principe existerait à l'état libre dans la Gaulthérie et non à l'état de combinaison glucosidique comme dans le *Betula lenta*, par exemple.

L'arbutoside et l'ursone, qui ont été obtenus cristallisés dans d'autres plantes et dont la composition est bien établie, n'ont pas été retirés de la Gaulthérie.

OXLEY se base seulement sur des réactions colorées pour indiquer leur présence dans cette plante.

L'éricoline n'est pas un produit défini, mais un extrait et ce nom doit être supprimé de la littérature, ainsi que nous croyons l'avoir établi dans notre étude de la Gaulthérie.

CHAPITRE II.

Etude de l'extrait aqueux de Gaulthérie fraîche [8].

Dès 1924, M. M. BRIDEL avait essayé de se procurer en Amérique, un extrait de Gaulthérie fraîche préparé par l'alcool bouillant, comme il avait obtenu un extrait frais de *Betula lenta* L.

Ses essais furent infructueux et les extraits envoyés ne contenaient pas de glucoside à salicylate de méthyle.

Nous avons pu obtenir, par l'intermédiaire de M. A. SEIDELL, de Washington, deux extraits convenablement préparés en suivant exactement nos indications.

M. JOHN URI LLOYD (1) a obtenu le premier de ces extraits en traitant la plante fraîche par l'eau bouillante, et l'autre en traitant par l'alcool.

Nous étudions dans ce chapitre l'extrait aqueux.

Préparation. — La plante fraîche est jetée dans trois fois son poids d'eau bouillante additionnée de carbonate de calcium, en ayant soin de ne pas interrompre l'ébullition. On laisse bouillir pendant 20 minutes. Après refroidissement, la plante est broyée et épuisée par une nouvelle quantité d'eau.

Les solutions aqueuses sont réunies, filtrées et distillées en extrait, sous pression réduite.

(1) M. LLOYD s'est très aimablement mis à notre disposition et nous sommes très heureux de lui adresser ici nos plus chaleureux remerciements pour son aide si obligeante et sa collaboration si efficace.

10 kg. de plante fraîche ont fourni 1360 g. d'extrait sirupeux, renfermant 986 g.,7 de résidu sec, soit un rendement de 9,86 p. 100. Cet extrait est arrivé d'Amérique dans de bonnes conditions. Il ne dégagait aucune odeur de salicylate de méthyle. Si on le dissout dans l'eau et qu'on le chauffe avec de l'acide sulfurique dilué, l'odeur de salicylate de méthyle se développe avec intensité.

Possédant ainsi un extrait de plante fraîche, bien préparé, nous avons d'abord mis en évidence, par la méthode biochimique à la rhamnodiastase de M. M. BRIDEL et C. CHARAUX [7], la présence d'un glucoside à salicylate de méthyle hydrolysable par ce produit fermentaire. Puis nous avons extrait, à l'état cristallisé, ce glucoside que nous avons identifié au monotropitoside.

1° Essais biochimiques.

La méthode biochimique à la rhamnodiastase ne peut pas être appliquée au *Gaultheria procumbens* L. telle que M. M. BRIDEL et C. CHARAUX l'ont indiquée. Cela tient à la présence, dans cette plante, d'une grande proportion de matières tanniques qui précipitent le ferment et s'opposent à son action.

Le même fait avait déjà été remarqué pour l'émulsine par Mlle A. FICHTENHOLZ [15], en 1911, dans la recherche de l'arbutoside (arbutine), dans la Busserole, plante de la même famille que la Gaulthérie.

Mlle A. FICHTENHOLZ a montré qu'il était nécessaire de précipiter presque totalement les matières tanniques par l'extrait de Saturne pour mettre en évidence l'action de l'émulsine sur l'arbutoside contenu, pourtant, en grande quantité dans la Busserole.

C'est ainsi qu'un liquide non défectueux n'a subi, en 14 jours, sous l'action de l'émulsine qu'un changement

de rotation de 6° vers la droite alors que, dans le même liquide déféqué, l'émulsine a provoqué, dans le même temps, un changement de rotation de 51°.

En conséquence, nous avons opéré de la façon suivante :

68 g. d'extrait, représentant 500 g. de plante fraîche, sont dissous dans q. s. d'eau distillée pour faire 500 cm³ de solution.

On prélève 200 cm³ sur lesquels on fait agir, sans défécation préalable, d'abord l'invertine, puis la rhamnodiastase.

Les 300 cm³ restants sont partiellement déféqués par addition de 60 cm³ d'extrait de Saturne, ce qui représente environ les deux tiers de la quantité nécessaire pour la défécation totale.

Le précipité abondant est essoré et lavé. Le liquide incolore est débarrassé du plomb par l'hydrogène sulfuré, filtré et distillé en sirop, sous pression réduite, sans dépasser + 50° pour éviter l'hydrolyse des glucides par l'acide acétique provenant de l'extrait de Saturne.

Le sirop est agité à l'éther pour enlever la plus grande quantité de l'acide acétique et on termine l'évaporation du sirop à sec, dans les mêmes conditions que précédemment.

Le résidu est dissous dans l'eau et la solution amenée au volume de 300 cm³. On fait agir alors l'invertine, puis la rhamnodiastase.

Voici d'abord les résultats obtenus par l'action de l'invertine sur les deux liquides :

	Liquide non déféqué	Liquide déféqué
Rotation ($l = 2$) :		
Avant l'essai.....	— 37°	— 36°
Après l'essai.....	— 2°55'	— 2°46'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³) :		
Avant l'essai.....	1,225	1,188
Après l'essai.....	2,581	2,426

L'invertine provoque, dans le liquide non déféqué, un changement de rotation de $2^{\circ}18'$ et la formation de 1 g.,356 de sucre réducteur exprimé en glucose; dans le liquide déféqué on observe un changement de rotation de $2^{\circ}10'$ et la formation de 1 g.,238 de sucre réducteur.

Ces résultats montrent que la défécation n'a pas entraîné l'hydrolyse du saccharose existant dans le liquide. Les chiffres sont un peu inférieurs dans le liquide déféqué, mais cela tient à une perte très légère en principes immédiats due aux manipulations nécessitées par la défécation.

D'après cet essai, la Gaulthérie fraîche renferme, pour 100 g., 1 g.,288 de saccharose.

L'action de l'invertine terminée, on fait agir, sur l'un et l'autre liquide, la rhamnodiastase. On obtient les résultats suivants :

Rotation ($l = 2$) :	Liquide non déféqué	Liquide déféqué
Avant l'essai.....	— $2^{\circ}55'$	— $2^{\circ}46'$
Après 3 jours.....	— $2^{\circ}48'$	— $2^{\circ} 6'$
— 8 jours.....	— $2^{\circ}18'$	— $1^{\circ}19'$
— 14 jours.....	— $2^{\circ} 9'$	— $1^{\circ}19'$
Sucre réducteur (p. 100 cm ³):		
Avant l'essai.....	2,581	2,426
Après 3 jours.....	2,711	2,628
— 8 jours.....	)	2,981
— 14 jours.....	2,973	2,981

Dès les premiers jours, le liquide déféqué dégage une très forte odeur de salicylate de méthyle, alors que, dans le liquide non déféqué, la même odeur n'est perçue que très faiblement au bout de 8 jours.

Examinons ces résultats. En trois jours la rhamnodiastase provoque un changement de rotation de $7'$ dans le liquide non déféqué et de $40'$ dans le liquide déféqué,

soit une différence d'action considérable, due à l'élimination des matières tanniques du liquide.

L'action de la rhamnodiastase est terminée en moins de 8 jours dans le liquide déféqué : on observe un changement de rotation vers la droite de $1^{\circ}27'$, avec formation de 0 g.,555 de sucre réducteur, exprimé en glucose, ce qui correspond à un indice de 382.

Dans le liquide non déféqué, en 14 jours, la rhamnodiastase fait apparaître un changement de $46'$, et la formation de 0 g.,392 de sucre réducteur, exprimé en glucose.

Les résultats sont donc plus nets et plus importants après défécation. La méthode biochimique à la rhamnodiastase, appliquée au liquide déféqué, prouve, en toute certitude, l'existence, en quantités importantes, d'un glucoside à salicylate de méthyle dans la Gaulthérie fraîche.

Rappelons que l'écorce fraîche de *Betula lenta* L. a fourni 3 g. de monotroposide par kilogramme et que dans l'essai biochimique on a obtenu seulement un changement de $30'$ avec formation de 0 g.,253 de sucre réducteur, exprimé en glucose.

L'indice de réduction enzymolytique du monotroposide est 352, c'est-à-dire, assez rapproché de celui qu'on a obtenu dans l'essai de la Gaulthérie, 382.

2° Extraction du monotroposide.

On épuise 250 g. d'extrait, à trois reprises, par un litre d'alcool à 95° bouillant. Les solutions alcooliques sont réunies et distillées à sec sous pression réduite. Le résidu pesant 120 g. est traité, à quatre reprises par un litre d'éther acétique hydraté, additionné de 5 p. 100 d'alcool à 95° . Le glucoside cristallise, dans les quatre

liquides, en très beaux cristaux prismatiques. On en obtient 7 g.,35, ce qui représente un rendement de 4 g. pour un kilogramme de plante fraîche. Mais on peut obtenir encore une nouvelle quantité de glucoside. Pour cela, on évapore à sec les solutions dans l'éther acétique, et on dissout le résidu dans l'eau. La solution aqueuse est déféquée complètement par l'extrait de Saturne. Le précipité est essoré et lavé. Le liquide incolore, débarrassé du plomb par l'hydrogène sulfuré, est filtré. Après quoi, on l'évapore à sec, sous pression réduite, sans dépasser + 50°.

Le résidu, pesant 18 g., est traité à l'ébullition par de l'éther acétique anhydre. On obtient, dans les trois premiers traitements, 4 g. de cristaux.

Ainsi, 250 g. d'extrait ont fourni 11 g.,35 de glucoside, soit un rendement de 6 g.,17 pour un kilogramme de plante fraîche. La Gaulthérie représente donc, à l'heure actuelle, la meilleure matière première pour l'extraction du monotropitoside.

Le produit obtenu est purifié en le faisant recristalliser dans l'acétone renfermant 8 p. 1.000 d'eau. On obtient, en partant de 11 g.,35 de glucoside brut, 6 g.,4 de glucoside pur que les propriétés suivantes identifient, en toute certitude, avec le monotropitoside.

Propriétés. — Traité, en poudre, par l'acide sulfurique concentré, il dégage l'odeur de salicylate de méthyle.

Sous l'action de l'orcine, en présence de l'acide chlorhydrique, à chaud, il donne la coloration violette caractéristique des pentoses.

Il fond, au bloc Maquenne, à + 179°,5, c'est-à-dire, exactement à la même température que le monotropitoside du *Betula lenta* L. Un mélange des deux produits fond également à + 179°,5.

Il est hydraté et perd, à $+ 105^{\circ}$, 3,85 p. 100 d'eau.

Son pouvoir rotatoire, en solution aqueuse, a été trouvé de :

$$\alpha_D = - 57^{\circ},91 \text{ (} p = 0,1885 ; \rho = 10 ; l = 2 ; \alpha = - 2^{\circ}11'$$

ce qui représente pour le produit anhydre $\alpha_D = - 60^{\circ},21$.

Hydrolyse sulfurique. — On fait l'hydrolyse en tube scellé, à $+ 100^{\circ}$, pendant une heure. Une solution renfermant, pour 100 cm³, 0, g.,6283 de glucoside et 3 g. d'acide sulfurique donne, après hydrolyse, 0 g.,4638 pour 100 cm³ de sucre réducteur exprimé en glucose, soit 73,97 p. 100 (Théorie : 73,99). Sa rotation est passée de $- 44'$ à $+ 20'$ ($l = 2$). L'indice de réduction est de 435 et le pouvoir rotatoire du sucre formé $\alpha_D = + 36^{\circ},03$. M. M. BRIDEL et P. PICARD [10] donnent comme indice 415 et comme pouvoir rotatoire $+ 38^{\circ},63$.

Hydrolyse fermentaire. — A 15 cm³ de solution de glucoside, à 2 g.,785 p. 100 cm³, on ajoute 0 g.,10 de rhamnodiastase. Après un contact d'une demi-heure, on perçoit nettement l'odeur de salicylate de méthyle, dont l'intensité augmente ensuite progressivement.

On suit la marche de l'hydrolyse au polarimètre et par dosage du sucre réducteur formé. On trouve :

	Déviation ($l = 2$)	Sucre réducteur formé pour 100 cm ³	
		en glucose	en primevérose
Avant l'addition de rhamno-			
diastase	$- 3^{\circ}18'$	»	»
Après 4 jours	$- 1^{\circ} 9'$	0,705	1,088
— 8 jours	$- 20'$	1,021	1,575

En 4 jours, pour un changement de rotation vers la droite de $3^{\circ}9'$, il s'est fait 0 g.,705 de sucre réducteur

exprimé en glucose, ce qui donne un indice de réduction enzymolytique de 328. En huit jours, pour un changement de rotation de $2^{\circ}58'$, la quantité de sucre réducteur formé s'est élevée à 1 g.,024, soit un indice de 344. M. M. BRIDEL et P. PICARD ont obtenu des indices de 349 et 352.

CHAPITRE III

Etude de l'extrait alcoolique de Gaulthérie fraîche.

Le gaulthérioside [25].

L'extrait alcoolique que nous avons étudié a été préparé par notre correspondant en Amérique. Un poids de 34 livres, 11 onces $1/4$ (15 kg.,780) de Gaulthérie verte récoltée en Virginie est traité de la façon suivante : la moitié est placée dans un récipient, couverte d'alcool et mise à bouillir. Après refroidissement, le liquide alcoolique est soutiré. Le marc épuisé est alors remplacé par l'autre moitié.

On verse dessus les liqueurs alcooliques qui ont servi au premier épuisement et on fait bouillir.

Le marc est séparé des liqueurs alcooliques d'épuisement; celles-ci sont évaporées rapidement dans un récipient clos. L'extrait obtenu est versé dans des flacons que l'on bouche aussitôt.

L'odeur de salicylate de méthyle imprègne fortement les solutions alcooliques. Cette odeur disparaît en partie pendant la concentration.

Cet extrait nous est arrivé en bon état de conservation. Il est verdâtre, grumeleux; il possède une odeur nette de salicylate de méthyle. Cette odeur croît si l'on triture un peu d'extrait avec de l'acide sulfurique pur.

Pendant le contact de la plante fraîche avec l'alcool froid, il a pu se faire une hydrolyse du monotropitose : le salicylate de méthyle formé communique son odeur à l'extrait. Aussi avons nous soumis cet extrait à l'essai biochimique à l'invertine et à la rhamnodiastase, comme cela a été fait pour l'extrait aqueux précédemment étudié.

1° Essai biochimique. — Nous avons prélevé une portion aliquote de l'extrait alcoolique que nous avons dissoute dans l'eau. Cette solution est partiellement déféquée au sous-acétate de plomb. Après essorage, l'excès de plomb est éliminé par un courant d'hydrogène sulfuré. On essore de nouveau, puis le liquide limpide et presque incolore est distillé à sec dans le vide. L'extrait dissous dans l'eau est soumis à la méthode biochimique à l'invertine et à la rhamnodiastase. Les résultats sont ramenés à un liquide dont 100 cm³ correspondent à 100 g. de plante fraîche.

Rotation ($l = 2$) :		100 cm ³ = 100 g.
Initiale.....	—	2°48'
Après l'action de l'invertine.....	—	4°56'
— l'action de la rhamnodiastase.....	—	4°14'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³) :		
Initial.....		2 g.,374
Après l'action de l'invertine.....		3 g.,707
— l'action de la rhamnodiastase.....		4 g.,112
Par l'invertine :		
Changement de déviation.....		2°8'
Sucre réducteur formé.....		1 g.,333
Indice de réduction.....		528
Par la rhamnodiastase :		
Changement de déviation.....		42'
Sucre réducteur formé.....		0 g.,405
Indice de réduction.....		578

L'invertine a provoqué un changement de déviation de 2°8' et la formation de 1 g.,333 de sucre réducteur exprimé en glucose pour 100 cm³. L'indice de réduction est de 628, très voisin de celui du saccharose, 603.

La rhamnodiastase a provoqué un retour de la déviation de 42' vers la droite. Le sucre réducteur a augmenté de 0 g.,405 et le liquide possède une forte odeur de salicylate de méthyle. L'indice de réduction est de 578.

Le tableau suivant permet de comparer les résultats ci-dessus avec ceux obtenus avec l'extrait aqueux :

	Extrait aqueux	Extrait alcoolique
Saccharose	1 g.,288	1 g.,266
Action de la rhamnodiastase :		
Changement de déviation.	1°27'	42'
Sucre réducteur formé....	0 g.,555	0 g.,405
Indice de réduction.....	382	578

La teneur en saccharose des deux extraits est identique, il n'y a donc pas eu hydrolyse de ce principe pendant la courte macération dans l'alcool froid.

Par contre, la quantité de sucre réducteur formé par la rhamnodiastase est plus faible d'un quart environ dans l'extrait alcoolique. De plus, le changement de déviation ayant été plus faible pour cet extrait, l'indice est fortement augmenté. Enfin, l'extrait alcoolique possède une odeur très nette de salicylate de méthyle, alors que l'extrait aqueux n'a aucune odeur.

L'extrait alcoolique renferme donc la totalité du saccharose de la plante fraîche, mais une partie du monotropitoside a été décomposée au cours de la préparation.

Malgré ces différences, l'extrait renferme encore une quantité importante de monotropitoside, car, après

l'hydrolyse fermentaire par la rhamnodiastase, le liquide possède une odeur très forte de salicylate de méthyle. Nous avons pu en retirer le monotropitoside et le saccharose.

2° Extraction du monotropitoside et du saccharose. — 400 g. de l'extrait alcoolique de Gaulthérie sont dissous dans 2 litres d'eau. La solution est entièrement déféquée au sous-acétate de plomb. Le liquide limpide obtenu après essorage est traité par un courant d'hydrogène sulfuré pour éliminer l'excès de sous-acétate de plomb. On essore et le liquide est distillé en consistance sirupeuse dans le vide sans dépasser + 50°. Ce sirop cristallise, on recueille les cristaux. On les purifie par une cristallisation dans l'alcool à 95°. Le rendement est de 6 g. Ils possèdent une saveur amère et donnent, sous l'action de l'acide sulfurique concentré, une forte odeur de salicylate de méthyle. Leur pouvoir rotatoire est de:

$$\alpha_D = -55^{\circ},08 ; (p = 0,1997 ; v = 20 ; l = 2 ; \alpha = -1^{\circ}6')$$

C'est du monotropitoside.

Le sirop débarrassé des cristaux est alors évaporé à sec dans le vide et on l'épuise à l'ébullition, à trois reprises différentes, par 500 cm³ d'éther acétique hydraté contenant 10 p. 100 d'alcool éthylique. Les liqueurs d'épuisement sont réunies et concentrées à 250 cm³. Après repos, il se forme des cristaux que l'on recueille et que l'on purifie par une cristallisation dans l'alcool à 95°. Les cristaux séchés à l'air ont un pouvoir rotatoire de:

$$\alpha_D = -56^{\circ},59 (p = 0,2032 ; v = 10 ; l = 2 ; \alpha = -2^{\circ}18')$$

C'est encore du monotropitoside: on en a obtenu 12 g.

Les eaux-mères de cristallisation sont alors divisées en deux. Une partie nous servira par la suite à extraire

un nouveau glucoside. La seconde partie va être utilisée à l'extraction du saccharose. On la distille à sec.

L'extrait est repris deux fois par 250 cm³ d'alcool à 95°.

Après un long repos, les deux solutions abandonnent des cristaux qui sont purifiés par une cristallisation dans l'alcool à 95°. Séchés à l'air, ils présentent un pouvoir rotatoire de :

$$\alpha_D = + 66^{\circ},33 \text{ (}\rho = 0 \text{ g., } 2010 \text{ ; } \nu = 20 \text{ ; } l = 2 \text{ ; } \alpha = + 1^{\circ}20')$$

Le produit n'est pas réducteur, mais par une hydrolyse sulfurique, la solution ci-dessus prend une déviation gauche — 28' alors qu'il se forme 0 g.,210 de sucre réducteur (théorie pour le saccharose : — 27' et sucre réducteur : 0 g.,211).

C'est donc bien du saccharose.

Le Gaulthérioside.

Nous avons vu que l'éricoline a été signalée par OXLEY dans la Gaulthérie ; mais l'éricoline, ainsi que nous l'avons montré, n'est pas un produit défini. Il est probable que c'est un mélange de glucosides et d'autres produits. Nous avons recherché si nous ne pourrions retirer de ce mélange glucosidique un produit pur. Nous avons opéré de la façon suivante :

Les liqueurs éthéro-acétiques partiellement privées de monotropitoside et mises de côté (voir plus haut) ont été évaporées à sec, puis reprises par de l'eau de façon à faire 1.000 cm³. On a ajouté 6 g.,70 de produit fermentaire extrait de la poudre de feuilles sèches de Gaulthérie (v. p. 50).

Ce produit fermentaire est très faiblement actif sur le monotropitoside et sur le saccharose,

Au bout de deux jours on observe cependant une faible odeur de salicylate de méthyle. On a noté les déviations polarimétriques suivantes :

Au départ.....	$\alpha = - 3^{\circ}16'$
Après un mois.....	$\alpha = - 5^{\circ}16'$
— deux mois.....	$\alpha = - 5^{\circ}30'$

L'hydrolyse est terminée au bout de deux mois.

Il s'est fait un important changement de la déviation vers la gauche dû à ce que le saccharose existe en quantités plus fortes que le monotropitoside.

Le liquide hydrolysé est versé dans deux litres d'alcool à 95° bouillant. On filtre et le filtrat est évaporé à sec dans le vide. L'extrait est alors épuisé par 10 litres d'éther acétique hydraté en plusieurs fois. Les diverses liqueurs d'épuisement sont toutes légèrement lévogyres. Elles sont évaporées à sec, l'extrait obtenu pèse 61 g.

Pour éliminer les sucres réducteurs formés par l'hydrolyse fermentaire, cet extrait est dissous dans 200 cm³ d'eau : on délaye dans la solution 40 g. de magnésie et on sèche en couches minces à l'étuve. Le résidu sec est épuisé par 1 litre d'alcool à 95° à l'ébullition. On essore. Le liquide alcoolique possède une déviation polarimétrique de — 52'. Il est évaporé à sec et l'extrait obtenu ne pèse plus que 34 g.

Cet extrait est dissous dans 340 cm³ d'eau. La solution ainsi obtenue présente un pouvoir rotatoire de :

$$\alpha_D = - 12^{\circ},65 \text{ (} p = 3\frac{1}{2} ; v = 340 ; l = 2 ; \alpha = - 2^{\circ}32' \text{)}$$

Son pouvoir réducteur, exprimé en glucose p. 100 cm³ est de 4 g.,53. 10 cm³ de cette solution sont amenés à 20 cm³ avec de l'eau puis ils sont additionnés de 20 cm³ d'acide sulfurique à 6 p. 100. On met cette solution, en tube scellé, au bain-marie bouillant, et on note les changements de déviation et de sucre réducteur,

	Déviatiou ($l = 2$)	Sucre réducteur (p. 100 cm ³)
Au départ.....	— 38'	1 g.,13
Après une heure.....	+ 10'	1 g.,75
— deux heures.....	+ 42'	1 g.,96
— trois heures.....	+ 10'	2 g.,12
— quatre heures.....	+ 10'	2 g.,15

L'hydrolyse est donc complète en trois heures à + 100°.

Par hydrolyse sulfurique, il s'est fait un changement de déviation vers la droite de 1°38' et le sucre réducteur a augmenté de 1 g.,02. Si nous calculons le pouvoir rotatoire du sucre contenu dans le liquide après hydrolyse, nous obtenons :

$$\alpha_D = + 23^{\circ},25 \text{ (} p = 2 \text{ g.,15 ; } v = 100 \text{ ; } l = 2 \text{ ; } \alpha = + 1^{\circ} \text{).}$$

La solution étudiée renferme donc un principe hydrolysable par l'acide sulfurique dilué et donnant, par hydrolyse, du sucre réducteur à pouvoir rotatoire droit. Cet extrait repris à l'ébullition par les différents solvants n'a pas laissé apparaître de cristaux, même après un repos prolongé. Pour tenter l'extraction de ce principe glucosidique, nous avons effectué une défécation à la chaux de façon à enlever le plus possible de sucre réducteur initial. Pour cela, le liquide est additionné d'un lait de chaux contenant 20 g. de chaux. Après un quart d'heure, on verse le liquide obtenu dans 1000 cm³ d'alcool à 95°. Les sucres donnent des sucrales de chaux, insolubles dans l'alcool. On laisse reposer une heure, puis on essore au filtre de Büchner. Les solutions alcooliques sont évaporées à sec dans le vide.

L'extrait obtenu pèse 10 g. et 1 g. de cet extrait est dissous dans 50 cm³ d'eau. La liqueur possède une déviation de — 1°36' ce qui correspond à un pouvoir rotatoire de $\alpha_D = - 40^{\circ},0$ pour l'extrait étudié. Le

pouvoir réducteur de cette solution est de 0 g.,06 de sucre réducteur p. 100 cm³, ce qui correspond à 3 p. 100 de sucre réducteur dans l'extrait. 10 cm³ de la solution sont additionnés de 10 cm³ d'acide sulfurique à 6 p. 100. On met dans un tube scellé au bain-marie bouillant. Les déviations et les dosages de sucre réducteur sont ramenés au liquide primitif.

	Déviatiou ($t = 2$)	Sucre réducteur (p. 100 cm ³)
Au départ.	— 1°36'	0 g.,06
Après une heure	+ 58'	1 g.
— deux heures	+ 1°22'	1 g.,55
— trois heures.....	+ 1°22'	1 g.,67

Par hydrolyse sulfurique, il s'est fait un changement de la déviation de 2°58' vers la droite et le sucre réducteur a augmenté de 1 g.,61 p. 100 cm³.

Le sucre réducteur formé possède donc un pouvoir rotatoire de + 34°,5 et l'extrait primitif donne 80 p. 100 de sucre réducteur par hydrolyse.

La solution hydrolysée et l'extrait primitif soumis à l'essai de l'orcine chlorhydrique donnent, d'une façon très intense, la réaction des pentoses.

Cet essai d'hydrolyse nous permet de conclure à la présence d'un glucoside lévogyre ($\alpha_D = -40^\circ,0$) très peu réducteur (3 p. 100) donnant par hydrolyse 80 p. 100 d'un sucre dextrogyre dont le pouvoir rotatoire est de $\alpha_D = +34^\circ,5$. Nous avons repris l'extrait par 60 cm³ d'alcool absolu.

On décante après 24 heures et quelques jours après on voit se former des cristaux. On les recueille et on les sèche à l'air. Le rendement a été de 0 g.,80 de glucoside brut en partant de 1 kg. de feuilles fraîches. Une recristallisation dans l'alcool absolu nous a donné 0 g.,60 de glucoside pur. C'est le *Gaulthérioside*. Nous

avons également caractérisé le Gaulthéroside dans l'extrait aqueux de Gaulthérie ainsi que dans la plante sèche par une méthode identique de purification.

Propriétés physiques. — La Gaulthéroside forme des cristaux blancs, en fines aiguilles microscopiques. Il est dépourvu d'odeur et possède une saveur sucrée. Il est très soluble dans l'eau. L'alcool absolu le dissout bien à chaud et l'abandonne cristallisé par refroidissement. Il est très peu soluble dans l'éther acétique et l'acétone anhydres.

Il fond très nettement à $+ 185^{\circ}$ au bloc Maquenne. Séché dans l'appareil de Bouillot, à $+ 80^{\circ}$ dans le vide sec, il perd rapidement 1,44 p. 100 de son poids. Maintenu à l'air pendant un jour, il reprend la quantité d'eau qu'il avait perdue.

Le glucoside ainsi obtenu est stable, non hygroscopique. Le pouvoir rotatoire du glucoside hydraté est de :

$$\alpha_D = - 57^{\circ},29 \text{ (} p = 0,9745 ; v = 10 ; l = 2 ; \alpha = - 1^{\circ},7 \text{)}$$

ce qui donne pour le produit anhydre :

$$\alpha_D = - 58^{\circ},07.$$

Propriétés chimiques. — Le Gaulthéroside ne renferme pas d'azote. Il ne possède pas de fonction acide, ni de fonction phénolique libres. Il n'est pas réducteur et ne donne pas de sels à la calcination. Traité par l'orcine chlorhydrique au bain-marie, il donne la coloration violette spécifique des pentoses.

L'acide sulfurique, l'acide nitrique, l'acide chlorhydrique et la soude ne produisent pas de coloration à froid.

L'acide sulfurique concentré le noircit à chaud, mais cette action n'est pas spécifique. Il est très stable vis-à-vis des alcalis forts comme la magnésie et surtout la chaux.

Le glucoside est hydrolysé par l'acide sulfurique dilué à l'ébullition.

Hydrolyse sulfurique.—0 g.,1196 de glucoside hydraté à 1,44 p. 100 d'eau sont dissous dans 20 cm³ d'acide sulfurique à 3 p. 100. On maintient au bain-marie bouillant en tube scellé. On observe les déviations polarimétriques suivantes :

	Déviatiou ($l = 2$)	Sucre réducteur pour 100 cm ³
Au départ.....	— 42'	0
Après 2 heures.....	+ 10'	0,4814
— 3 heures.....	+ 20'	non dosé
— 4 heures.....	+ 22'	0,5382

La rotation de la solution est devenue droite et il s'est formé 0 g.,5382 de sucre réducteur exprimé en glucose pour 100 cm³. Si nous calculons le pouvoir rotatoire du sucre obtenu par hydrolyse, nous trouvons : $\alpha_0 = +34^{\circ},06$. Le liquide d'hydrolyse donne la réaction des pentoses à l'orcine chlorhydrique.

Ce glucoside anhydre donne par hydrolyse sulfurique 91,31 p. 100 de sucre réducteur exprimé en glucose.

Nous avons effectué une autre hydrolyse sulfurique : 0 g.,1626 de glucoside hydraté à 1,44 p. 100 d'eau ont été hydrolysés pendant trois heures au bain-marie bouillant par 50 cm³ d'acide sulfurique à 3 p. 100. La solution possède une déviation de $\alpha = +14'$ et le sucre réducteur pour 100 cm³ est de 0 g.,2915. Le pouvoir rotatoire du sucre formé est de $\alpha_0 = +35^{\circ},87$ et le glucoside anhydre donne 90,98 de son poids de sucre réducteur par hydrolyse. Le sucre formé est très probablement un mélange équimoléculaire de glucose et de xylose : le pouvoir rotatoire d'un tel mélange est de $\alpha_0 = +37^{\circ}$. Le Gaulthérioside serait un primevéroside.

Nous avons d'ailleurs caractérisé le xylose à l'état de xylonobromure de cadmium d'après la technique de

M. G. BERTRAND. Pour cela, 10 cm³ du liquide d'hydrolyse sulfurique sont concentrés par distillation au 1/10^e de leur volume. Le distillat est mis de côté. Le liquide concentré est dilué à 20 cm³ et neutralisé par addition de carbonate de calcium. On essore et on lave à l'eau le précipité de sulfate de calcium formé. Les liquides réunis sont concentrés à 3 cm³. On ajoute alors 1/10^e de cm³ de brome. On bouche et on agite de temps à autre jusqu'à dissolution complète du brome. L'oxydation du xylose en acide xylonique est totale en 48 heures. On fait bouillir pour chasser l'excès de brome. On neutralise le liquide par le carbonate de cadmium et on fait bouillir. On filtre bouillant. Par refroidissement il se dépose des cristaux caractéristiques de xylonobromure de cadmium.

Caractérisation du produit non glucidique de dédoublement. — Le distillat obtenu plus haut est additionné d'une goutte de soude. On ajoute ensuite lentement quelques gouttes de solution aqueuse d'iode. On agite. On perçoit nettement l'odeur de l'iodoforme en même temps qu'il se forme un léger louche dû à sa précipitation.

Hydrolyse fermentaire. — 0 g.,09745 de glucoside hydraté sont dissous dans 10 cm³ d'eau. On ajoute 0 g.,05 de rhamnodiastase et une goutte de toluène. On place à l'étuve à + 30°. On observe les changements de déviation après défécation au sous-acétate de plomb. Dans le tableau ci-dessous les chiffres de déviation sont ramenés au liquide primitif.

	Déviation (<i>l</i> = 2)
Au départ,	$\alpha = - 1^{\circ}7'$
Après huit jours . . .	$\alpha = - 1^{\circ}6'$
Après deux mois . . .	$\alpha = - 1^{\circ}6'$
Après trois mois . . .	$\alpha = - 1^{\circ}6'$

L'hydrolyse par la rhamnodiastase est donc nulle.

Analyse élémentaire. — Etant donnée la faible quantité de gaulthérioside dont on disposait, il a fallu faire des microanalyses suivant la technique de PREGL (1). Les analyses ont été effectuées sur le produit hydraté, stable à l'air. On a déduit des pesées l'eau d'hydratation.

	Prise d'essai	Poids de l'eau	Poids de CO ²	H p. 100	C p. 100
1	7 mg.,884	5 mg.,136	13 mg.,193	7,18	46,23
2	4 mg.,903	2 mg.,950	8 mg.,110	6,68	45,11
3	5 mg.,175	3 mg.,124	8 mg.,577	6,70	45,20

Soit, en moyenne :

$$H = 6,85 \text{ p. } 100$$

$$C = 45,51 \text{ p. } 100$$

CRYSCOPIE. — Elle a été effectuée sur le produit hydraté :

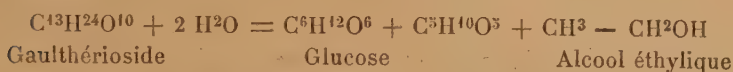
Poids du corps	= 0 g.,09745
Poids de l'eau	= 9 g.,9863
Concentration	= 0 g.,9617
Abaissement du point de congélation	= 0°,053
Poids moléculaire	= $\frac{18,5 \times 0,9617}{0,053} = 335$

FORMULE. — En se basant sur ces analyses nous proposons pour le Gaulthérioside la formule C¹³H²⁴O¹⁰ :

	Trouvé	Calculé
C p. 100.....	45,51	45,88
H p. 100	6,85	7,08
Poids moléculaire.....	335	340
Sucre réducteur formé par hydrolyse....	91,31	97,05

(1) Les analyses ont été faites par M. BRUNEL, au Laboratoire de Chimie du Museum. Je lui adresse mes meilleurs remerciements.

L'équation de l'hydrolyse sulfurique devient alors la suivante :



Le produit non glucidique serait donc de l'alcool éthylique.

La réaction de l'iodoforme obtenue plus haut est donnée par cet alcool sans pour cela être spécifique.

Mais il a été impossible de caractériser sûrement l'alcool éthylique par suite de la faible quantité de gaulthérioside dont nous disposions.

CONCLUSIONS. — La méthode biochimique à l'invertine et à la rhamnodiastase nous a permis de doser le saccharose et le monotropitoside contenus dans un extrait de Gaulthérie fraîche. Cet extrait a été préparé en immergeant les feuilles dans l'alcool froid puis en faisant bouillir. Ainsi que le montre l'essai biochimique, cet extrait renferme la plus grande partie des principes glucidiques de la plante fraîche.

Le monotropitoside et le saccharose ont pu être obtenus cristallisés en partant de cet extrait.

Le monotropitoside n'est d'ailleurs pas le seul primevéroside existant dans la Gaulthérie fraîche. Nous sommes parvenus à extraire un nouveau glucoside en petites quantités il est vrai. Nous avons pu cependant donner ses constantes physiques et son analyse chimique. Ce glucoside nouveau est le primevéroside de l'alcool éthylique. Il n'est pas réducteur. Il est hydraté et possède, anhydre, un pouvoir rotatoire de $\alpha_D = -58^{\circ},07$. Il est hydrolysable à l'ébullition par l'acide sulfurique dilué en donnant du glucose, du xylose et de l'alcool éthylique. Il n'est pas hydrolysé par la rhamnodiastase.

CHAPITRE IV.

Etude de la Gaulthérie sèche [9].

Nous avons reçu, en août 1928, 20 kg. de Gaulthérie sèche (plante entière), récoltée en même temps que la plante fraîche qui a servi à préparer les extraits analysés précédemment.

Nous avons étudié la plante entière afin de comparer sa composition à l'état frais et à l'état sec.

Nous avons séparé les feuilles, les tiges et les rhizomes.

Les fruits ont été examinés séparément ; récoltés le 28 février 1928, ils nous sont parvenus en avril 1928.

Les rhizomes n'existaient qu'en très faible quantité, 0,5 p. 100 dans la Gaulthérie sèche dont nous disposions.

La séparation des feuilles et des tiges a été effectuée jusqu'à l'obtention de 5.000 g. de feuilles. On avait alors 2.015 g. de tiges.

Le rapport des tiges aux feuilles dans la Gaulthérie sèche était le suivant ; 1.000 g. de plante entière renferment 712 g. de feuilles et 288 g. de tiges.

Avant d'aborder l'étude de la plante sèche, nous avons fait un essai indiquant la présence du glucoside à salicylate de méthyle. Dans ce but, nous avons pesé sépa-

rément 10 g. de feuilles et 10 g. de tiges. Les feuilles, simplement cassées à la main et les tiges coupées en morceaux de 2 cm. environ ont été mises à macérer dans l'eau distillée, à + 30°.

Au bout de deux heures, les deux liquides dégageaient une odeur très nette de salicylate de méthyle, beaucoup plus intense avec les feuilles qu'avec les tiges.

Contrairement à une affirmation de PROCTER (v. p. 9) cette expérience prouve que la Gaulthérie sèche renferme encore un glucoside à salicylate de méthyle, à côté du ferment capable, en solution aqueuse, d'hydrolyser ce glucoside.

1° Plante entière.

On fait tomber 100 g. de plante entière sèche dans 2 litres d'alcool à 60° porté à l'ébullition. Après 20 minutes d'ébullition, afin d'assurer la destruction des ferments, on laisse refroidir. Les plantes sont hachées puis mises à bouillir de nouveau dans le même alcool. On exprime et on filtre après refroidissement. Le liquide est distillé à sec sous pression réduite.

L'extrait pesant 28 g. est dissous dans l'eau et la solution aqueuse est partiellement déféquée par addition de 24 cm³ d'extrait de Saturne. Le précipité est essoré et lavé et le liquide précipité par l'hydrogène sulfuré, filtré et distillé à sec, sous pression réduite, sans dépasser + 50°.

Le résidu, pesant 15 g. est dissous dans l'eau de façon à obtenir une solution dont 100 cm³ représentent 100 g. de plante entière sèche.

On fait agir, sur ce liquide, successivement l'invertine et la rhamnodiastase et l'on obtient les résultats suivants :

Rotation ($l = 2$) :

Avant l'essai	+ 1° 2'
Après l'action de l'invertine.....	— 5° 2'
— l'action de la rhamnodiastase ...	— 3°46'

Sucre réducteur (p. 100 cm³) :

Avant l'essai.....	3 g.,450
Après l'action de l'invertine.....	6 g.,534
— l'action de la rhamnodiastase	6 g.,946

Par l'invertine :

Changement de rotation.....	6°4'
Sucre réducteur formé.....	3,084
Indice de réduction.....	608

Par la rhamnodiastase :

Changement de rotation.....	1°16'
Sucre réducteur formé.....	0,412
Indice de réduction.....	325

Le sucre réducteur initial s'élève à 3 g.,450 pour 100 cm³ et la rotation initiale est droite + 1°2'.

Sous l'action de l'invertine, il se fait un changement de rotation vers la gauche de 6°4' et 3 g.,084 de sucre réducteur. L'indice de réduction, 608, tout à fait voisin de celui du saccharose, 603, permet de dire que la Gaulthérie sèche renferme, p. 100 g., 2 g.,930 de saccharose.

Sous l'action de la rhamnodiastase, on observe un changement de rotation vers la droite de 1°16' et la formation de 0 g.,412 de sucre réducteur, exprimé en glucose. L'indice de réduction, 325, est assez rapproché de celui du monotropitoside, 352. Comme, d'autre part, le liquide, après l'action de la rhamnodiastase, dégage une forte odeur de salicylate de méthyle, on peut considérer les changements observés comme dus à l'hydrolyse du glucoside à salicylate de méthyle.

Calculons la quantité de monotropitoside hydrolysé. On sait que 446 de monotropitoside donnent 312 de

primevérose. Or, 1 g. de primevérose a un pouvoir réducteur égal à celui de 0 g.,648 de glucose. Par suite 312 g. de primevérose réduisent comme 202,17 de glucose. En multipliant le poids de sucre réducteur exprimé en glucose, trouvé dans l'essai biochimique, par le facteur $\frac{446}{202,17} = 2,206$, on obtient la quantité de monotropitoside correspondant au sucre réducteur formé sous l'action de la rhamnodiastase.

Il apparait ainsi que la Gaulthérie sèche renferme, pour 100 g., 0 g.,908 de monotropitoside. Il est impossible de se rendre compte, de façon précise, de la perte en saccharose et en monotropitoside qu'a pu subir la Gaulthérie au cours de sa dessiccation, puisque la teneur en matière sèche de la plante fraîche, traitée aux Etats-Unis n'a pas été déterminée.

Toutefois, une indication sur l'ordre de grandeur de cette perte est fournie par le poids d'extrait provenant de la plante fraîche d'une part (9 g.,867 p. 100) et par la plante sèche d'autre part (28 g. p. 100). D'après ces chiffres, on calcule que la plante fraîche a dû perdre par dessiccation 64,78 p. 100 de son poids.

Nous comparons dans le tableau suivant la teneur en saccharose et en monotropitoside de la plante sèche et de la plante fraîche traitée par l'eau (v. p. 13) ou par l'alcool (v. p. 21). Les chiffres correspondent à 100 g. de plante fraîche.

	Plante sèche	Extrait aqueux	Extrait alcoolique
Saccharose	1 g.,035	1 g.,288	1 g.,266
Monotropitoside . . .	0 g.,321	1 g.,224	0 g.,893

Nous voyons que l'extrait aqueux renferme la plus grande quantité de monotropitoside et de saccharose.

La plante fraîche traitée par l'alcool renferme la même quantité de saccharose que la plante traitée à

l'eau bouillante, mais la teneur en monotropitoside a diminué de 27,0 p. 100. Ceci tient, ainsi que nous l'avons vu, à la courte macération subie par les feuilles dans l'alcool froid.

La dessiccation n'a détruit que 12 p. 100 du saccharose initial. Par contre, la destruction du monotropitoside est considérable puisqu'elle atteint 73,8 p. 100.

On peut expliquer par cette perte considérable, subie au cours d'une dessiccation soignée, comment on n'a jamais retrouvé jusqu'ici le glucoside à salicylate de méthyle dans la Gaulthérie sèche et on comprend qu'une dessiccation mal conduite ou une mauvaise conservation puisse amener la disparition totale de ce principe glucosidique.

2° Feuilles.

A. Essai biochimique. — Nous avons procédé comme pour la plante entière (v. p. 36).

Rotation ($l = 2$) :

Initiale.....	+ 29'
Après l'action de l'invertine.....	— 5°55'
— l'action de la rhamnodiastase.....	— 2°53'

Sucre réducteur (p. 100 cm³) :

Initial... ..	4,029
Après l'action de l'invertine.....	7,865
— l'action de la rhamnodiastase.....	8,863

Par l'invertine :

Changement de rotation.....	6°24'
Sucre réducteur formé.....	3,386
Indice.....	599

Par la rhamnodiastase :

Changement de rotation.....	3°2'
Sucre réducteur formé.....	0,998
Indice.....	329

Les feuilles sèches contiennent une assez forte proportion de sucre réducteur 4 g.,029 p. 100 g. Sous l'action de l'invertine, il se fait un changement de rotation vers la gauche de 6°24' et une quantité de sucre réducteur s'élevant à 3 g.,386 pour 100 cm³. L'indice de réduction, 599, est tout à fait voisin de celui du saccharose, 603. Les feuilles sèches renferment donc 3 g.,644 de saccharose pour 100 g.

La rhamnodiastase provoque un changement de rotation vers la droite de 3°2' ainsi que la formation de 0 g.,998 de sucre réducteur, exprimé en glucose, pour 100 cm³.

Le liquide dégage après l'action de la rhamnodiastase, une très forte odeur de salicylate de méthyle. L'indice de réduction, 329, étant peu éloigné de celui du monotropitoside, 352, on peut dire que les changements observés sont dus uniquement à l'hydrolyse de ce glucoside en salicylate de méthyle et en primevérose : 100 g. de feuilles sèches renferment donc 2 g.,261 de monotropitoside.

B. Extraction du monotropitoside. — On fait tomber 1 kg. de feuilles sèches dans 7 litres d'alcool à 60° bouillant. Après 20 minutes d'ébullition, on laisse refroidir ; les feuilles sont passées au hachoir et elles sont épuisées par 6 nouveaux litres d'alcool à 60°, à l'ébullition. Le résidu est exprimé puis on réunit et filtre les solutions alcooliques que l'on distille pour retirer l'alcool.

La solution aqueuse est filtrée pour séparer la chlorophylle, concentrée, sous pression réduite, à un litre, épuisée à l'éther et additionnée de 7 litres d'alcool à 90°, ce qui provoque la formation d'un précipité qu'on sépare par décantation.

Le liquide alcoolique, limpide, est distillé à sec, sous

pression réduite. On obtient 324 g. d'extrait qu'on épuise, à 7 reprises, par un litre d'éther acétique hydraté renfermant 5 p. 100 d'alcool à 95°. Par repos, les 4 premières reprises cristallisent. On obtient 2 g.,95 de cristaux.

On évapore à sec les solutions éthéro-acétiques. Les 65 g. d'extrait obtenus sont dissous dans l'eau. La solution aqueuse est complètement déféquée par l'extrait de Saturne; le précipité est essoré et lavé; le liquide incolore est débarrassé du plomb par l'hydrogène sulfuré, filtré et distillé à sec, sous pression réduite, sans dépasser + 50°. Le résidu (25 g.) est traité, à l'ébullition, par l'éther acétique hydraté puis par l'acétone. Le monotropitoside cristallise dans les deux dissolvants. On en obtient 5 g.,92, ce qui représente avec les 2 g.,95 précédemment recueillis, 8 g.,87 pour 1 kg. de feuilles sèches.

Toutefois, l'essai biochimique à la rhamnodiastase ayant indiqué une teneur de 22 g. de monotropitoside par kg. de feuilles, nous avons cherché à en obtenir une nouvelle quantité en traitant par de l'éther acétique à 20 p. 100 d'alcool à 95°, l'extrait, épuisé par l'éther acétique à 5 p. 100 d'alcool à 95°. On fait 4 épuisements d'un litre et on continue les opérations comme précédemment. On obtient 4 g.,03 de monotropitoside. ce qui porte à 12 g.,90 le rendement pour 1 kg. de feuilles. Le produit est purifié par cristallisation dans l'acétone à 8 p. 1000 d'eau. Ses propriétés l'identifient, en toute certitude, avec le monotropitoside.

Propriétés.— Traité, en poudre, par l'acide sulfurique concentré, il dégage l'odeur de salicylate de méthyle.

Sous l'action de l'orcine, en présence d'acide chlorhydrique à chaud, il donne la coloration violette caractéristique des pentoses. Il est hydraté et perd,

à $+105^{\circ}$, 4,44 p. 100 de son poids 0 g.,6298 ont perdu 0 gr.,0280.

Son pouvoir rotatoire, en solution aqueuse, a été trouvé de :

$$\alpha_D = -56^{\circ},82 \quad (p = 0,6673 ; \nu = 25 ; l = 2 ; \alpha = -3^{\circ}2')$$

ce qui représente, pour le produit anhydre,

$$\alpha_D = -59^{\circ},53.$$

Le monotropitoside de la Gaulthérie fraîche, anhydre, avait un pouvoir rotatoire de :

$$\alpha_D = -60^{\circ},21.$$

Hydrolyse sulfurique. — On fait l'hydrolyse, en tube scellé, au bain-marie bouillant, pendant deux heures. Une solution renfermant, pour 100 cm³, 0 g.,5102 de glucoside et 3 g.,2 d'acide sulfurique, donne, après hydrolyse 0 g.,380 de sucre réducteur, exprimé en glucose, pour 100 cm³ (Théorie : 0 g.,3775). Sa rotation passe de $-36'$ à $+18'$ ($l=2$). L'indice de réduction est de 422. Nous avons trouvé précédemment 434 ; M. M. BRIDEL et PICARD donnent 415. Le pouvoir rotatoire du sucre formé est $\alpha_D = +39^{\circ}47'$.

Hydrolyse fermentaire. — A 20 cm³ de solution de glucoside à 2 g.,5508 p. 100 cm³, on ajoute 0 g.,20 de rhamnodiastase. L'odeur de salicylate de méthyle est perçue rapidement.

On suit la marche de l'hydrolyse au polarimètre et par dosage du sucre réducteur formé, on trouve :

	Rotation ($l=2$)	Sucre réducteur formé dans 100 cm ³ .	
		en glucose	en primevérose
Avant l'essai.....	$-3^{\circ}2'$	»	»
Après 4 jours.....	$-36'$	0 g.,7845	1 g.,2097
— 8 jours.....	$-18'$	0 g.,8856	1 g.,3656

En 4 jours, pour un changement de rotation vers la droite de 2°26', il se fait 0 g.,7845 de sucre réducteur exprimé en glucose, soit un indice de réduction enzymolitique de 327. En 8 jours, pour un changement de 2°44', l'indice est de 324.

3° Tiges.

A. **Essai biochimique.** — L'essai biochimique est effectué sur 100 g. de tiges. Nous suivons le même procédé que pour la plante entière (v. p. 36).

Voici les résultats obtenus :

Rotation ($l = 2$) :

Initiale.....	+ 2°24'
Après l'action de l'invertine.....	— 2°43'
— l'action de la rhamnodiastase.....	— 2° 2'

Sucre réducteur (p. 100 cm³) :

Initial.....	1,982
Après l'action de l'invertine.....	4,943
— l'action de la rhamnodiastase.....	5,290

Par l'invertine :

Changement de rotation.....	5°7'
Sucre réducteur formé.....	2,961
Indice de réduction.....	578

Par la rhamnodiastase :

Changement de rotation.....	41'
Sucre réducteur formé.....	0,347
Indice de réduction.....	560

Les tiges renferment environ deux fois moins de sucre réducteur que les feuilles, 1 g., 982 au lieu de 4 g., 029 et la rotation initiale est beaucoup plus à droite + 2°24' au lieu de + 29', ce qui peut indiquer la présence ou d'une plus forte quantité de saccharose ou d'une plus faible quantité de monotropitose.

L'action de l'invertine montre que la quantité de saccharose est plus faible, puisqu'il y a eu un changement de rotation de $5^{\circ}7'$ au lieu de $6^{\circ}24'$ et que le sucre réducteur formé est de 2 g.,961 au lieu de 3 g.,386. L'indice de réduction est plus faible que celui du saccharose, 578 au lieu de 603. Néanmoins, on peut dire que les tiges sèches renferment 2 g.,813 de saccharose pour 100 g.

L'action de la rhamnodiastase est plus de quatre fois moindre au point de vue du changement de rotation, $41'$ au lieu de $3^{\circ}2'$ et près de trois fois pour le sucre réducteur formé, 0 g.,347 au lieu de 0 g.,998. L'indice de réduction, 560, est nettement différent de celui du monotropitoside et de celui qu'on a obtenu dans l'essai des feuilles. Toutefois, il se dégage une odeur très nette, quoique faible, de salicylate de méthyle. D'après la quantité de sucre réducteur formé, il existerait donc 0 g.,765 de monotropitoside pour 100 g. de tiges sèches, mais l'indice de réduction, très élevé, permet de supposer qu'à côté du monotropitoside il y aurait un autre glucoside hydrolysable par la rhamnodiastase.

B. Extraction du monotropitoside. — Nous avons opéré sur les 2.015 g. de tiges provenant de la séparation des 5 kg. de feuilles. Ces tiges sont traitées selon le procédé utilisé pour l'extraction du monotropitoside des feuilles (v. p. 40).

Le résidu obtenu par distillation après défécation totale à l'ébullition à quatre reprises, à un jour d'intervalle, par 1 litre d'éther acétique contenant 5 p. 100 d'alcool à 95° .

Par repos, les deux premières liqueurs cristallisent. On obtient 11 g. de cristaux que l'on purifie par dissolution dans l'alcool à 95° à l'ébullition.

Après addition de noir animal et filtration, le mono-

tropitoside cristallise. Les cristaux sont recueillis et séchés à l'étuve. On en obtient 7 g.,50. Les propriétés de ces cristaux les identifient, en toute certitude, avec le monotropitoside.

Propriétés. — Traité en poudre par l'acide sulfurique concentré, il dégage une forte odeur de salicylate de méthyle. Il présente également la réaction des pentoses à l'orcine chlorhydrique.

Il est hydraté et perd à $+105^{\circ}$, 4,50 p. 100 de son poids d'eau.

Son pouvoir rotatoire, en solution aqueuse a été trouvé de :

$$\alpha_D = -56^{\circ},70 \text{ (} p = 0 \text{ g.,5012; } \rho = 20; l = 2; \alpha = -2^{\circ}50')$$

ce qui représente pour le produit anhydre :

$$\alpha_D = -59^{\circ},15.$$

Il fond nettement à $+179^{\circ},5$.

Le corps ainsi obtenu est donc bien du monotropitoside.

4° Rhizomes.

Essai biochimique. — La préparation de la solution qui nous a servi à l'essai biochimique, a été exactement celle que nous avons indiquée pour la plante entière (v. p. 36).

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Rotation ($l \cong 2$) :

Initiale.....	+ 2°28'
Après l'action de l'invertine.....	— 1° 5'
— l'action de la rhamnodiastase.....	— 43'

Sucre réducteur (p. 100 cm³) :

Initial.....	1,357
Après l'action de l'invertine.....	3,588
— l'action de la rhamnodiastase.....	3,740

Par l'invertine :

Changement de rotation	3°43'
Sucre réducteur formé.....	2,231
Indice de réduction	600

Par la rhamnodiastase :

Changement de rotation	22'
Sucre réducteur formé.....	0,152
Indice de réduction.	414

Les rhizomes renferment encore moins de sucre réducteur, de saccharose, et de glucoside à salicylate de méthyle que les feuilles ou les tiges.

L'invertine provoque un changement de rotation de 3°43' et une formation de 2 g.,231 de sucre réducteur. L'indice de réduction, 600, permet de dire que les rhizomes secs renferment 2 g.,119 de saccharose pour 100 g.

La rhamnodiastase ne provoque qu'un faible changement de rotation, 22', et une formation de 0 g.,152 de sucre réducteur, exprimé en glucose. L'indice de réduction, 414, est plus élevé que celui du monotropitoside, 352. Le liquide, après action de la rhamnodiastase, dégage une odeur faible de salicylate de méthyle. Les rhizomes renferment donc, pour 100 g., 0 g.,335 de monotropitoside.

5° Fruits.

Les fruits de Gaulthérie sont des capsules loculicides bacciformes. Elles sont globuleuses, rouges à complète maturité, et ont environ 5 mm. de diamètre. Leur saveur est légèrement sucrée. Broyées elles ne dégagent qu'une faible odeur de salicylate de méthyle.

4 kg. de fruits cueillis le 25 février ne pesaient plus à leur arrivée, le 2 avril, que 2 kg.,300. Ils étaient formés

de fruits rouges et d'une grosse quantité de fruits noirs, altérés.

Essai biochimique. — Nous avons appliqué à 364 g. de fruits rouges, puis à 250 g. de fruits altérés, la méthode de défécation partielle à l'extrait de Saturne utilisée pour la plante entière (v. p. 36).

Le Tableau suivant résume les résultats obtenus pour des liquides dont 100 cm³ correspondent à 108 g. de produit.

	Fruits rouges	Fruits altérés
Rotation ($l = 2$) :		
Avant l'essai.....	— 4° 33'	— 1° 58'
Après l'action de l'invertine.....	— 4° 28'	— 1° 58'
— l'action de la rhamnodiastase	— 4° 4'	— 1° 51'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³) :		
Avant l'essai.....	3,605	0,864
Après l'action de l'invertine.....	3,616	0,875
— l'action de la rhamnodiastase....	3,894	0,889
Par l'invertine :		
Changement de rotation	5'	0
Sucre réducteur formé.....	0,091	0,014
Indice de réduction.....	700	
Par la rhamnodiastase :		
Changement de rotation.....	24'	4'
Sucre réducteur formé.....	0,278	0,014
Indice de réduction.....	695	

Dans les deux liquides, après l'action de la rhamnodiastase, il se dégage une forte odeur de salicylate de méthyle.

Examinons ces résultats.

1° Fruits rouges. — Les fruits rouges contiennent une assez forte proportion de sucre réducteur, 3 g.,605 pour 100 g. Sous l'action de l'invertine, il se fait un très

faible changement de rotation (5') vers la droite et il se forme 0 g.,091 de sucre réducteur, exprimé en glucose pour 100 cm³. L'indice de réduction, 695, est très éloigné de celui du monotropitoside.

La rhamnodiastase provoque un changement de rotation vers la droite de 24' ainsi que la formation de 0 g.,278 de sucre réducteur exprimé en glucose p. 100 cm³. L'indice de réduction 695 est très éloigné de celui du monotropitoside.

2° Fruits altérés.— Les fruits altérés renferment seulement 0 g.,864 de sucre réducteur pour 100 grammes. Cette diminution est due à une fermentation qui détruit les sucres. Sous l'action de l'invertine, il ne se produit aucun changement de déviation, et il se forme une quantité très faible de sucre réducteur, 0 g.,011 pour 100 cm³.

La rhamnodiastase provoque un changement de rotation de 4' vers la droite ainsi que la formation de 0 g.,014 de sucre réducteur exprimé en glucose pour 100 cm³.

Le liquide, après l'action de ce ferment, dégage une faible odeur de salicylate de méthyle, ce qui indique la présence d'une petite quantité de monotropitoside, ce dernier existant en quantité trop faible pour être décelé, d'une façon certaine, par l'essai biochimique.

Conclusions. — Il ressort de ces essais que les fruits mûrs de Gaulthérie renferment une forte quantité de sucre réducteur.

Dans les fruits altérés, ce sucre est détruit en partie par fermentation.

Le monotropitoside n'est décelable dans les fruits que par l'odeur de salicylate de méthyle qui se dégage des liquides après l'action de la rhamnodiastase.

CHAPITRE V.

Recherche des ferments.

Nous avons recherché, dans la poudre de feuilles sèches, et dans les fruits de Gaulthérie, la sucrase, la glucosidase- β et la primevérosidase. Pour cela, nous avons opéré sur des solutions à 1 p. 100 de saccharose, d'amygdalosite, de picéosite, de méthylglucoside- β et de monotropitoside.

1° Fruits.

Extraction du produit fermentaire. — 500 grammes de capsules de Gaulthérie, séchées à l'étuve, sont grossièrement broyées, puis ils sont épuisés par percolation rapide avec 3 litres d'alcool à 60°. Le marc est séché et mis à macérer dans 4 fois son poids d'eau toluénée pendant deux jours, en agitant fréquemment. Au bout de ce temps, le marc est pressé et le liquide aqueux obtenu est précipité par 3 volumes d'alcool à 90°. Il se forme un précipité qui est recueilli sur un filtre de Büchner.

Après dessiccation dans le vide sulfurique et pulvérisation, c'est une poudre grise de bonne conservation. Le rendement est de 1 g.,60 par kg. de fruits frais,

Nous avons mélangé 0 g., 10 de cette poudre à 30 cm³ de solution des glucides à 1 p. 100. On a mis à l'étuve à + 30°. La solution du produit fermentaire étant impossible à examiner au polàrimètre, il a fallu déféquer à l'extrait de Saturne avant de procéder à cet examen.

Dans le tableau suivant, les résultats sont ramenés au volume primitif.

	Au départ	Après 4 jours	Après 17 jours
Saccharose	+ 1°18'	+ 52'	— 9'
Amygdalosite	— 44'	»	— 12'
Picéosite	— 1°46'	— 1° 6'	+ 36'
Méthylglucoside β	— 40'	— 23'	— 12'
Monotropitose	— 1° 8'	— 50'	— 12'

Le produit fermentaire extrait des fruits renferme une sucrase peu active puisque le saccharose n'a été presque entièrement hydrolysé qu'en 17 jours. L'hydrolyse de l'amygdalosite et du méthylglucoside-β est nette, mais faible.

Par contre, le picéosite est totalement hydrolysé. Ce produit fermentaire contient donc de la glucosidase β. La primevérosidase a hydrolysé les 5/6 du monotropitose en 17 jours.

2° Feuilles.

Les feuilles sèches de Gaulthérie sont broyées et réduites en poudre demi-fine.

Nous avons effectué, sur 500 g. de cette poudre, une percolation rapide, avec 3 litres d'alcool à 60°. Le marc est séché et constitue une poudre A épuisée par l'alcool. Une partie de ce marc est traitée à l'eau toluénée et à l'alcool, comme il a été dit pour les fruits. Le précipité obtenu est un produit fermentaire, désigné sous le nom de poudre B; on obtient 4 g. de produit fermentaire, pour 100 g. de marc.

A. *Poudre épuisée par l'alcool.* — 0 g.,50 de poudre sont mélangés à 30 cm³ de solution des glucides à 1 p. 100 et la liqueur est portée à l'étuve à + 30°.

Le tableau suivant donne les observations polarimétriques effectuées après défécation.

	Au départ	Après 4 jours	Après 17 jours
Saccharose.....	+ 1°18'	+ 23'	— 21'
Amygdalosite.....	— 44'		+ 19'
Picéosite.....	— 1°46'	— 5'	+ 31'
Méthylglucoside β.....	— 40'	— 31'	— 7'
Monotropitoside.....	— 1° 8'	— 2'	0

En 17 jours, le saccharose a été entièrement hydrolysé. La sucrase renfermée dans la poudre de feuilles épuisée par l'alcool est donc plus active que celle contenue dans les fruits.

L'hydrolyse et l'amylglucoside est totale en moins de 17 jours, ainsi que celle du picéosite. Par contre, le méthylglucoside β n'a pas été hydrolysé entièrement. Le monotropitoside est entièrement hydrolysé en quatre jours, ce qui indique la présence d'une primevérosidase très active.

B. *Produit fermentaire extrait de la poudre de feuilles.*
— On a mélangé 0 g.,10 de produit fermentaire à 30 cm³ de solution des glucides à 1 p. 100 et mis à l'étuve à + 30°.

Les observations polarimétriques ont été faites après défécation. Le tableau ci-dessous donne les résultats obtenus.

	Au départ	Après 4 jours	Après 17 jours
Saccharose.....	+ 1°18'	+ 1°16'	+ 1°16'
Amygdalosite.....	— 44'		— 42'
Picéosite.....	— 1°46'	— 1°44'	— 1°44'
Méthylglucoside β.....	— 40'	— 38'	— 38'
Monotropitoside.....	— 1° 8'	— 1° 7'	— 50'

Le saccharose, l'amydaloside, le picéoside et le méthylglucoside β sont restés inaltérés. Seul le monotropitoside a subi une légère hydrolyse. La poudre fermentaire extraite des feuilles sèches de Gaulthérie ne renferme donc qu'une primevérosidase faiblement active.

Conclusions. — La poudre fermentaire des feuilles de Gaulthérie est beaucoup plus riche en ferments que le produit fermentaire extrait des mêmes organes. Les ferments, sucrase et glucosidase β , sont restés fixés sur les parois cellulaires de la plante. Seule, la primevérosidase est passée, en partie, en solution dans l'eau.

Il est donc indiqué, parfois, de préférer les poudres fermentaires aux produits fermentaires.

CHAPITRE VI.

Recherches de l'arbutoside et de l'ursone dans la Gaulthérie,

Nous savons que OXLEY avait caractérisé, dans les feuilles de Gaulthérie, deux principes : l'arbutine et l'ursone. D'ailleurs, l'auteur n'a pas obtenu ces deux produits à l'état pur. Pour l'arbutine, il s'est contenté de la réaction de Jungmann. L'ursone n'a pas été isolée et les réactions caractéristiques n'ont pu être obtenues, le produit étudié renfermant de la chlorophylle.

La recherche de l'arbutine par la réaction de Jungmann a déjà fait l'objet de nombreuses critiques (v. p. 6).

Nous avons recherché l'arbutoside dans l'extrait aqueux de Gaulthérie fraîche. Nous n'avons pas obtenu ce glucoside, malgré de très nombreux essais : Nous avons alors recherché après hydrolyse fermentaire, la présence du produit non glucidique de dédoublement de l'arbutoside : l'hydroquinone.

400 g. d'extrait aqueux de Gaulthérie fraîche, correspondant à 3 kg. de feuilles fraîches, sont entièrement déféqués au sous-acétate de plomb. On essore. Le liquide obtenu est privé de l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré. On essore à nouveau et on distille

le liquide l'impide à sec, dans le vide. Ces manipulations n'ont pas altéré l'arbutoside, s'il existe. L'extrait obtenu est repris par 500 cm³ d'eau ; il est épuisé à l'éther jusqu'à ce que ce solvant n'entraîne plus rien. On ajoute alors à la solution aqueuse 2 g. d'émulsine et on porte à l'étuve à + 30° pendant 8 jours. Le liquide est alors épuisé à nouveau à l'éther ; celui-ci n'enlève qu'une petite quantité de salicylate de méthyle formé par le dédoublement du monotropitoside sous l'action de l'émulsine. La liqueur éthérée est évaporée à sec : le résidu pèse 0 g.,20 il est formé uniquement de salicylate de méthyle et nous n'avons pu y caractériser l'hydroquinone.

Il est donc bien peu probable que l'arbutoside existe dans la Gaulthérie, puisque, en partant de 3 kg. de feuilles fraîches, nous n'avons pu obtenir l'hydroquinone après hydrolyse fermentaire. Dans l'étude de l'ursone, nous avons suivi le mode opératoire qui a permis à DODGE [43] de retirer 11 g., d'ursone de 200 g. de feuilles d'*Uva-ursi*.

500 g. de poudre de feuilles de Gaulthérie sont épuisés par percolation rapide au moyen de 3 litres d'alcool méthylique renfermant 30 g., de potasse caustique. La solution verte obtenue est acidifiée franchement au moyen de 100 cm³ d'acide acétique pur. Elle est ensuite concentrée à 750 cm³ et on abandonne pendant plusieurs jours. Il se forme un dépôt vert amorphe qui semble constitué par la chlorophylle altérée. Ce dépôt est isolé et est repris par de l'alcool méthylique qui le dissout en partie. Nous n'avons pas obtenu de cristaux dans la solution méthylique, il s'est formé un dépôt vert semblable à celui que nous avons déjà obtenu. Nous n'avons pas isolé d'ursone des feuilles de Gaulthérie. Les caractères donnés par OXLEY ne prouvent d'ailleurs pas sa présence.

CONCLUSIONS.

La méthode biochimique à l'invertine et à la rhamnodiastase appliquée à la Gaulthérie nous a permis de caractériser, dans cette plante, le saccharose et un hétéroside donnant, sous l'action de la rhamnodiastase, du salicylate de méthyle. Cet hétéroside est le *monotropitoside*. Il a été obtenu cristallisé, et il a été identifié par ses propriétés physiques et chimiques.

L'arbutoside et l'ursone, qui avaient été signalés par OXLEY, dans la Gaulthérie, n'ont pu être caractérisés, malgré de nombreuses expériences, et leur existence est problématique.

L'éricoline, mentionnée également par OXLEY, n'est pas un produit défini.

I. — La composition de la plante fraîche a été déterminée par l'étude de deux extraits différents, préparés en Amérique : un extrait aqueux, obtenu en faisant tomber la plante dans l'eau bouillante, et un extrait alcoolique, préparé en immergeant les feuilles dans l'alcool froid, puis en faisant bouillir.

La teneur en saccharose de ces deux extraits est sensiblement la même. L'extrait aqueux renferme plus de monotropitoside que l'extrait alcoolique, par suite d'une légère hydrolyse de cet hétéroside pendant l'immersion de la plante dans l'alcool froid, avant l'ébullition.

II. — Après avoir fait cristalliser le monotropitoside et le saccharose de l'extrait alcoolique, deux défécations

successives, à la magnésie puis à la chaux, nous ont permis d'obtenir, cristallisé, un nouvel hétéroside : le *Gaulthérioside*. Le rendement en glucoside est faible : 0 g.,60 pour 1 kg. de feuilles fraîches.

Le Gaulthérioside résulte de l'union du primevérose avec l'alcool éthylique. Son pouvoir rotatoire est de $\alpha_D = -58^{\circ},07$ (anhydre). Il est hydrolysé par l'acide sulfurique, en donnant 91 pour 100 de sucre réducteur.

III. — La plante sèche ne renferme plus que le tiers du monotropitoside initial et la presque totalité du saccharose. Nous avons étudié séparément les feuilles, les rameaux, les rhizomes et les fruits. L'essai biochimique nous a indiqué la présence du monotropitoside dans ces divers organes. Nous l'avons extrait à l'état pur des feuilles et des rameaux, organes qui en renferment le plus.

IV. — Nous avons recherché les ferments contenus dans les feuilles et les fruits de Gaulthérie. La poudre de feuilles, épuisée à l'alcool, renferme une sucrase, une glucosidase β assez active et une primevérosidase très active.

Un produit fermentaire extrait des feuilles et un autre retiré des fruits ne renferment qu'une faible quantité de ferments, alors que la poudre de feuilles, simplement épuisée à l'alcool, s'est montrée plus active.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,

J. BOUGAULT.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,

M. RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. Em. BOURQUELOT. — Sur la présence dans le *Monotropa hypopitys* L. d'un glucoside del'éther méthylsalicylique et sur le ferment hydrolysant de ce glucoside. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1896, 6^e série, **3**, 577.
2. M. BRIDEL. — Etude biochimique sur la composition du *Monotropa hypopitys* L. 2^e mémoire. Obtention d'un nouveau glucoside à salicylate de méthyle, la monotropitine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, **5**, 918.
3. M. BRIDEL. — Sur la véritable nature du glucoside à salicylate de méthyle existant dans l'écorce fraîche du *Betula lenta* L. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, **6**, 659.
4. M. BRIDEL. — Sur la présence de la monotropitine dans les racines fraîches de trois espèces de Spirées ; *Spiræa Ulmaria* L. ; *S. Filipendula* L. ; *S. gigantea*, var. *roscæ*. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, **6**, 679.
5. M. BRIDEL. — Sur l'hydrolyse fermentaire du *monotropitoside*, (monotropitine) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, **7**, 52.
6. M. BRIDEL. — Le primevérose, les primevérosides et la primevérosidase. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, **7**, 926.
7. M. BRIDEL et C. CHARAUX. — Méthode biochimique de recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par la rhamnodiastase. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, **8**, 40.
8. M. BRIDEL et Mlle S. GRILLON. — Le glucoside à salicylate de méthyle du *Gaultheria procumbens* L. est le monotropitoside. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, **10**, 1326.

9. M. BRIDEL et Mlle S. GRILLON. — Sur la présence de notables quantités de monotropitoside dans le *Gaultheria procumbens* L. (plante entière) après dessiccation *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, **11**, 466.
10. M. BRIDEL et P. PICARD. — Sur la préparation et les propriétés du monotropitoside. *Journ. de Pharm. et Chim.*, 1926, 8^e série, **3**, 49.
11. A. CAHOURS. — Recherches sur l'huile de *Gaultheria procumbens* L. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 843, 3^e série, **3**, 364-368.
12. CLAASEN. — On the bitter principle of the American cranberry (*Vaccinium microcarpum*) *Am. Journ. of Pharm.*, **58**, 321.
13. DODGE. — The isomeric lactones. Caryophyllin and Urson. *The Journ. of the Amer. Chem. Soc.*, XL 1917-1918.
14. A. FICHTENHOLZ. — Recherche de l'arbutine dans les végétaux. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1908, 6^e série, **28**, 255-262.
15. A. FICHTENHOLZ. — Application de la méthode biochimique à l'analyse de la Busserole. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1911, 7^e série, **4**, 441-446.
16. A. GORIS, M. MASCRÉ et C. VISCHNIAG. — Glucosides et essences de Primevère. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1912, **19**, 557-598, 648-670.
17. A. KANGER. — Betrachtungen über das Ericolins. *Chem., Zeit*, 1903, **27**, 794-796.
18. J. OXLEY. — On some constituents of ericaceous Plants. *Amer. Journ. Pharm.*, 1872, **44**, 250-253.
19. H. P. PETTIGREW. — On the composition of oil of gaultheria. *Amer. Journ. Pharm.* 1884, **56** 265-268.
20. PICARD. — Sur la composition de quelques plantes renfermant un glucoside à salicylate de méthyle. Le monotropitoside et le violutoside. Thèse Université (Pharmacie), Paris, 1929.

21. L. PLANCHON et Ph. BRETIN. — Précis de matière médicale Tome II, p. 1067.
22. F. B. POWER et N. C. WERBKE. — The constituents of wintergreen leaves (*Gaultheria procumbens* L.). *The Pharm. Journ.*, 1888-1889, 3^e série, **19**, 349-350.
23. W. PROCTER. — Observations on the volatile oil of *Gaultheria procumbens* proving it to be a hydracid analogous to salicylic acid. *Amer. Journ. Pharm.*, 1842-1843, **14**, 211-221.
24. W. PROCTER. — Observations on the volatile oil of *Betula lenta* L. and on Gaultherin, a substance which by its decomposition, yields that oil. *Amer. Journ. Pharm.*, 1843, **15**, 241-250.
25. J. RABATÉ et Mme S. RABATÉ. — Sur le Gaulthérioside, nouveau primevéroside extrait de la Gaulthérie fraîche (Plante entière). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**.
26. ROCHLEDER et SCHWARZ. — Nachschrift zur Untersuchung des *Ledum Palustre*, Wien. Sitzung der Kaiserl. A. K. der Wissensch. 1852, **9**, 307-312.
27. CH. SANDO. — Constituents of the Waxlike Coating on the surface of the apple. *J. biol. Chem.*, 1923, **56**, 457.
- 27 b's. CH. SANDO. — Ursolic acid. *J. biol. Chem.*, 1931, **90**, 477-495.
28. A. SCHNEEGANS et J.-E. GEROCK. — Ueber gaultherin, ein neues glukosid aus *Betula lenta* L. *Arch. der Pharm.*, 1894, **232**, 437.
29. R. THAL. — Erneute Untersuchungen über zusammentzung und Spaltungsproducte des Ericolins und über seine Verbreitung in der Familie der Ericaceen nebst einen Anhang überdie Leditannsäure, die Callutannsäure und das Pinipikrin. *Pharm. Zeit für Russland* 1883, **22**, 209-219, 233-237. 249-259, 265-274, 281-289
30. TROMMSDORF. — Urson, ein neuer Stoff von den Blättern der Bärentraube. *Arch. Pharm.*, 1854, **80**, 273.
31. VAN DER HAAR. — X. Über das Urson. *Rec. Trav. Chim.*, Pays-Bas, 1924, **43**, 367,

32. VAN DER HAAR. — XI. Die Identität von Prunol mit Urson. *Rec. Trav. Chim.*, Pays Bas, 1924, **43**, 543.
 33. VAN DER HAAR. — XII. Über das Oléanol. *Rec. Trav. Chim.*, Pays-Bas. 1924, **43**, 548.
 34. VAN DER HAAR. — Über die Ursolsäure II Die Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf Ursolsäure. *Rec. Trav. Chim.*, Pays-Bas, 1928, **47**, 585.
 35. A. WICKMANN. — Ueber *Cassiopa Tetragona* L. *Zeits allgem. österr. Apotheker-Vereines*, 1912, **50**, 561-564.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages.
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE PREMIER. — Travaux antérieurs sur la composition chimique de la Gaulthérie.....	5
CHAPITRE II. — Etude de l'extrait aqueux de Gaulthérie fraîche.....	13
CHAPITRE III. — Et de de l'extrait alcoolique de Gaulthérie fraîche. Le Gaulthérioside.....	21
CHAPITRE IV. — Etude de la Gaulthérie sèche.....	35
CHAPITRE V. — Recherche des ferments.....	49
CHAPITRE VI. — Recherche de l'Arbutoside et de l'Ursone dans la Gaulthérie.....	53
CONCLUSIONS.....	55
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	57

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
